植保會刊 25：177～190 (1983)
Plant Prot. Bull. (Taiwan, R.O.C.) 25：177～190 (1983)

胡瓜嵌紋病毒與黑眼豇豆嵌紋病毒複合感染引起的長豇豆皺葉嵌紋病[1]

張 清 安

臺灣省農業試驗所植物病理系

(接受日期：民國72年6月30日)

摘 要

夏季栽培之長豇豆普遍發生一種嚴重之毒素病，病株葉片出現皺葉嵌紋，分枝減少生育不良，開花及結實率顯著降低，豆莢捲曲變形且有壞疽現象，品質及產量均受嚴重之影響。利用煙草與菜豆可由病株中分離到兩種病毒，其中之一爲球形顆粒病毒，根據其寄主範圍與反應確定爲胡瓜嵌紋病毒 (Cucumber mosaic virus)，另一爲長絲狀病毒，長度約爲 750nm 左右，依據其寄主範圍與反應以及血清學特性確定爲黑眼豇豆嵌紋病毒 (Blackeye cowpea mosaic virus)。二者分別感染長豇豆時並不產生皺葉嵌紋病徵，但是將兩病毒混合接種或前後接種，則可產生與田間病株完全相同的皺葉嵌紋病徵。在溫室管理之狀況下單獨感染任一病毒之病株，其產量與品質與不接種對照之差異不顯著，但是複合感染病株則與對照達極顯著之差異。複合感染病株中兩病毒之濃度均較單獨感染時提高，提高的程度以 CMV 較顯著。利用單隻桃蚜可將複合病株中之CMV 或 BlCMV 以單獨或複合之狀態傳至健株，其總和傳播率較之以單獨感染病株作傳染源時提高甚多。以上證據顯示兩病毒間發生相乘效應 (synergism) 導至長豇豆發生皺葉嵌紋病。

(關鍵字：長豇豆、胡瓜嵌紋病毒、黑眼豇豆嵌紋病毒，相乘作用，病毒間交互作用。)

ABSTRACT

Chang, C. A. 1983 **Rugose mosaic of asparagus bean caused by dual infection with cucumber mosaic virus and blackeye cowpea mosaic virus.** Plant Prot. Bull. (Taiwan, R. O. C.) 25:177～190

A virus disease of asparagus bean with severe rugose mosaic symptoms was found widespread in the field. Two viruses were isolated from the diseased plants using tobacco and kidney bean as filter hosts. The host reactions, physical properties in crude sap, particle morphology and transmission characteristics indicated that one of the two viruses was cucumber mosaic virus (CMV) while the other blackeye cowpea mosaic virus (BlCMV). The BlCMV

---

[1] 臺灣省農業試驗所 研究報告第 1100 號。

isolate was also proved to be serologically identical with BlCMV from the United States by SDS-immunodiffusion tests. When asparagus beans were inoculated by mechanical means or by aphid vectors with both CMV and BlCMV, simultaneously or in sequences, the leaves above the inoculated ones would show the rugose mosaic symptom, and the pods would develop abnormally and become necrotic at a late stage. However, when the test plants inoculated with virus singly, CMV caused only leaf mottling whereas BlCMV caused vein banding mosaic. Neither could cause abnormal pods. In the greenhouse, no differences were found in the growth, yield and quality of asparagus beans between plants inoculated with CMV or BlCMV singly and those of the healthy controls. On the contrary, the growth, yield and quality of plants doubly infected by CMV and BlCMV differed significantly from those of the healthy ones. The concentration of either virus in doubly infected plants was higher than in singly infected ones. Aphid transmission studies showed that CMV and BlCMV could be transmitted from doubly infected plants by one single aphid to cause single or dual infections in asparagus beans. The percentage of transmission from using doubly infected plants as virus sources was about two times greater than from using singly infected sources. These results suggest a synergistic effect between CMV and BlCMV in asparagus beans.

(Key words: asparagus bean, *Vigna sesquipedalis*, CMV, BlCMV, virus interaction, synergism)

緒　言

長豇豆 (*Vigna sesquipedalis* Fruwirth)，英名 Asparagus bean，本省俗稱菜豆，乃夏季主要蔬菜之一，除作鮮蔬食用外，並有部份經冷凍後外銷日本及馬來西亞。其栽培十分容易且又豐產，因此廣受農民喜愛，除了大面積經濟性生產外，大部分農家往往有少量栽培供自家食用，因此其栽培遍及全省各地，且由於夏季期間本省葉菜類及根菜類蔬菜產量偏低，長豇豆便成了夏季蔬菜之寵兒。長豇豆之主要產地爲高屏地區，以里港、高樹、九如等地爲主要集散地。近年來各地區均普遍發生毒素病，常見之病徵有斑紋，脈綠嵌紋及皺葉嵌紋等，此三種病徵型中以後者發生最普遍，而且對豆株生育之影響也最嚴重。罹病植株之病徵主要爲葉片皺縮嵌紋 (Rugose mosaic)，生育不良，開花及結實率降低，豆莢扭曲變形，後期甚至發生壞疽全株生長極爲衰弱，容易提早落葉死亡。此病害傳播十分快速，對本省豇豆生產有不良之影響。本文乃闡述此病害之病因學研究，病毒之分離與鑑定、媒介傳播方式及對本省主要栽培品種——高雄青莢之產量與品質之影響，供防治此病害之參考。

材料與方法

一、病毒來源及保存

供試罹病材料採自里港地區之典型皺葉嵌紋型病株，依汁液接種法接種於溫室中之長豇豆上保存，供試長豇豆品種爲農友種苗公司之高雄青莢。汁液接種法除另有說明外，均以10倍量 (W/V) 之 0.1 M 磷酸緩衝液 pH 7.0，將病葉磨碎過濾，然後以棉花沾取汁液輕拭灑有 400 目金鋼砂之供試植物葉片，約 2-3 分鐘後再以自來水洗去多餘汁液及遺留之金剛砂。所有之供試植物均培育於溫室內，每星期施用 20-20-20(N:P:K) 之混合肥料一次，並噴佈殺蟲劑以杜絕媒介昆蟲之發生與傳染。

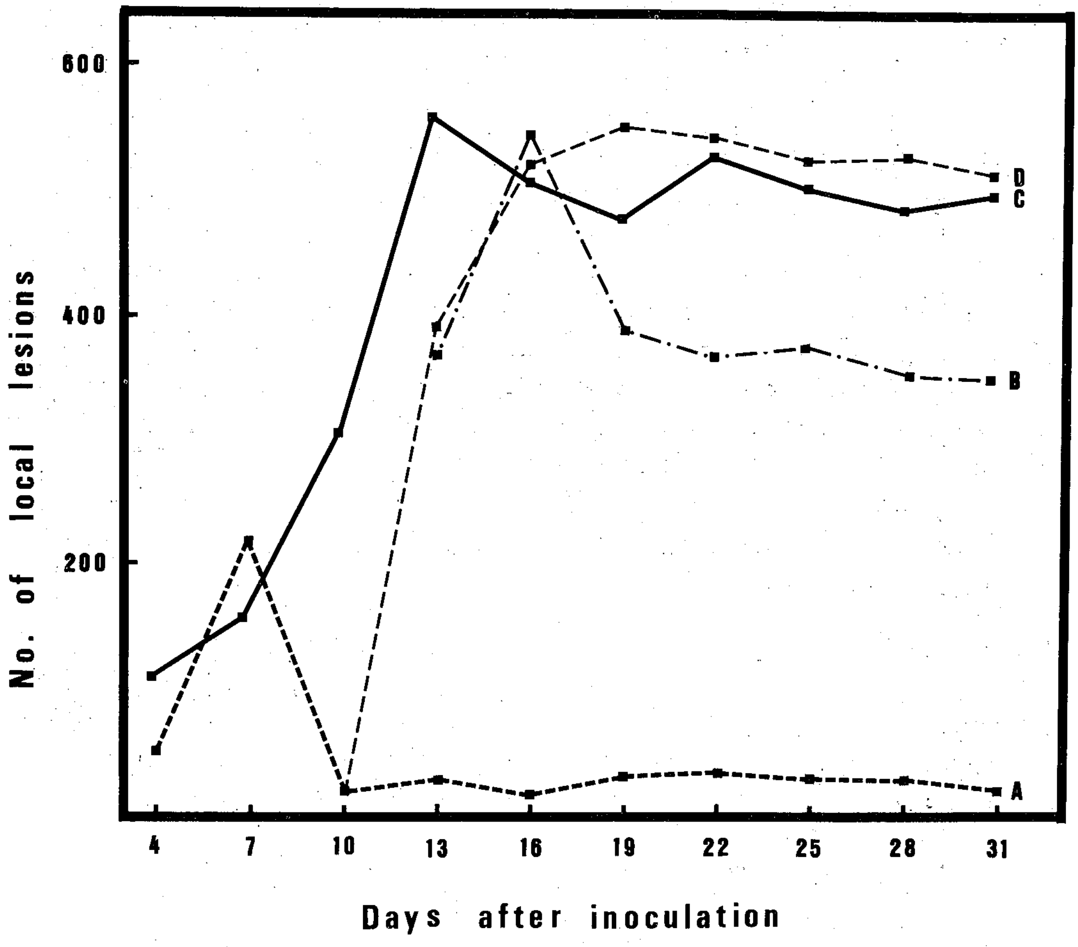


圖 1. 單獨感染胡瓜嵌紋病毒（CMV）及複合感染 CMV 與黑眼豇豆嵌紋病毒（BlCMV）之長豇豆病株中 CMV 之濃度變化情形。（A……）單獨接種 CMV 之病株；（B－・－）先接種 BlCMV，十天後再接種 CMV 之病株；（C——）CMV 與 BlCMV 混合同時接種之病株；（D－－－）先接種 CMV，十天後再接種 BlCMV 之病株。

Fig 1. Fluctuation of CMV concentration in asparagus beans inoculated with CMV singly (A……); inoculated with BlCMV first and challenged with CMV 10 days after first inoculation (B– • –); inoculated with CMV and BlCMV simultaneously (C———); inoculated with CMV first and challenged with BlCMV 10 days after first inoculation (D– – –).

二、病毒之鑑定

各供試病毒均先經單病斑之分離篩選後再予以鑑定，鑑定係以寄主反應、粗汁液物理性質、粒子形態及媒介方式爲主要之依據，另外藉 SDS 双重免疫擴散反應 (SDS-immunodiffusion) 法與已知之病毒抗原比較，做進一步鑑定之證據。進行寄主反應測定係將汁液接種於三～四葉齡之指示植物，接種後觀察四～六星期再回接於豇豆及藜 (*Chenopodium amaranticolor*)上，以測定其感染情形。病毒之粗汁液物理性質，乃根據以藜所進行之生物檢定 (Bioassay) 結果加以判定 (1)。病毒粒子之形態，則用 JEM 7 型電子顯微鏡，就 2% PTA ，pH 7.2 陰染之病葉切口滴液標本 (Direct dipping preparation)觀察而得。SDS 双重免疫擴散反應乃根據 Purcifull[27] 之方法

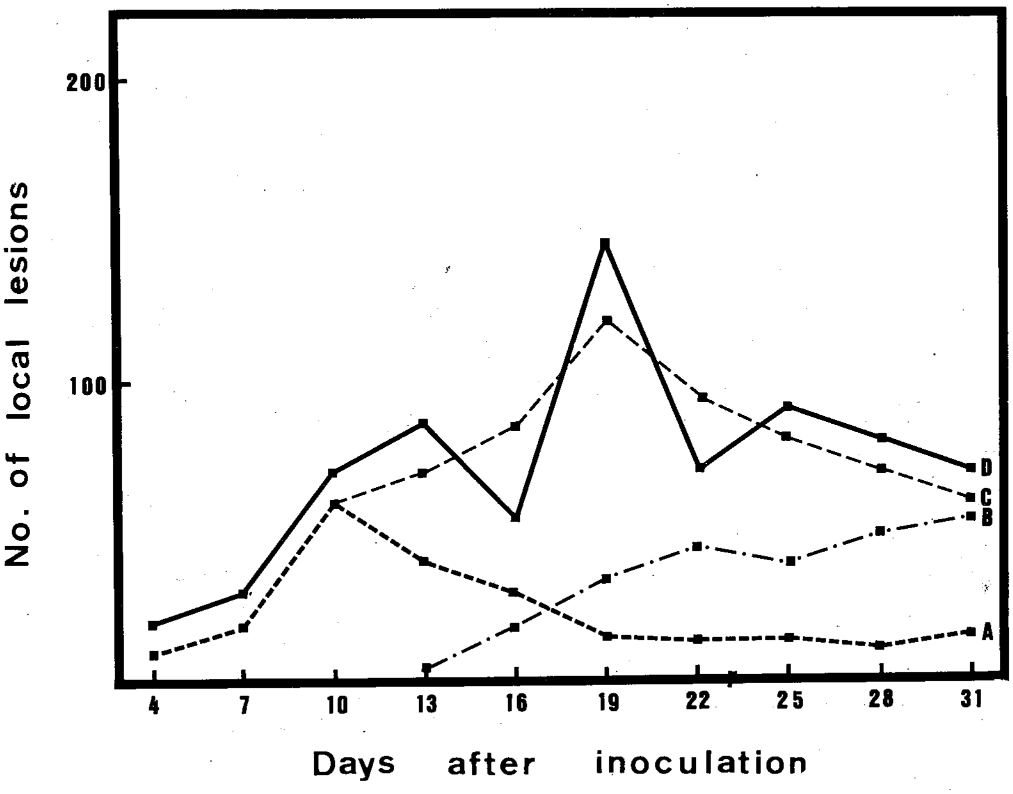
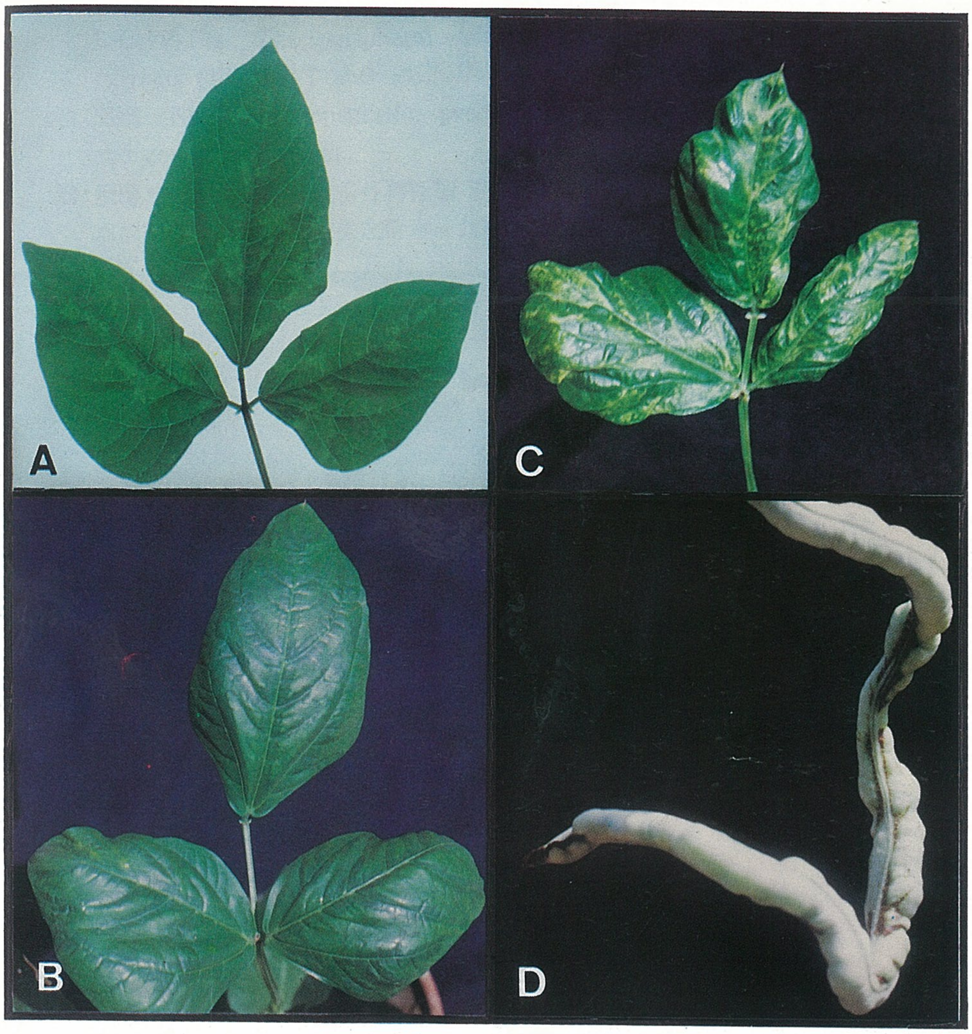


圖 2. 單獨感染黑眼豇豆嵌紋病毒 (BlCMV) 及複合感染 BlCMV 與胡瓜嵌紋病毒 (CMV) 之長豇豆病株中 BlCMV 之濃度變化情形。(A……) 單獨接種 BlCMV 之病株；(B－・－) 先接種 CMV，十天後再接種 BlCMV 之病株；(C－－－) 先接種 BlCMV，十天後再接種 CMV 之病株；(D———) CMV 與 BlCMV 混合同時接種之病株。

Fig 2. Fluctuation of BlCMV concentration in asparagus beans inoculated with BlCMV singly (A……); inoculated with CMV first and challenged with BlCMV 10 days after first inoculation (B－・－); inoculated with BlCMV first and challenged with CMV 10 days after first inoculation (C－－－); inoculated with CMV and BlCMV simultaneously (D———).



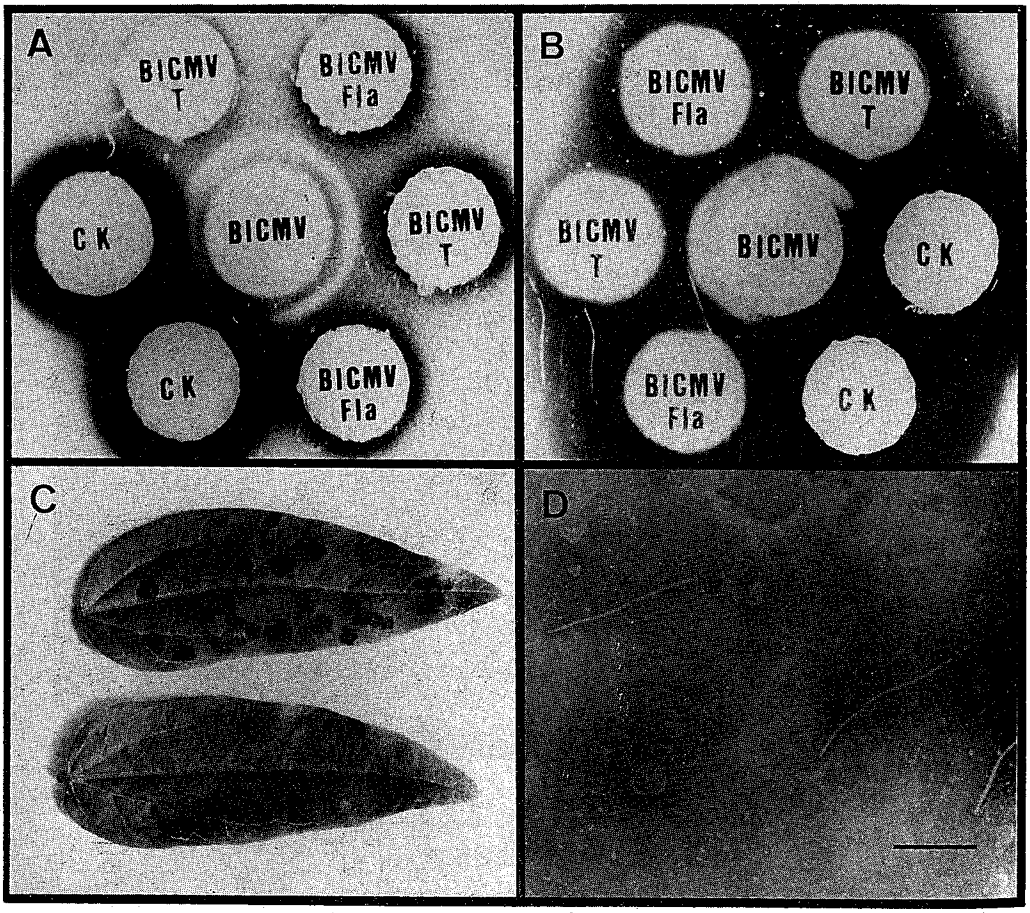
圖版 1. Plate 1.

A. 胡瓜嵌紋病毒（CMV）在長豇豆上所造成之斑紋病徵。
Mottling symptoms on asparagus bean leaf caused by cucumber mosaic virus (CMV).

B. 黑眼豇豆嵌紋病毒（BlCMV）在長豇豆上所造成之脈綠嵌紋病徵。
Vein banding mosaic symptoms on asparagus bean leaf caused by blackeye cowpea mosaic virus (BlCMV).

C. 胡瓜嵌紋病毒與黑眼豇豆嵌紋病毒複合感染長豇豆後所引起之皺葉嵌紋病徵。
Rugose mosaic symptoms on asparagus bean leaf induced by dual infections with CMV and BlCMV.

D. 胡瓜嵌紋病毒與黑眼豇豆嵌紋病毒複合感染長豇豆後所引起的豆莢捲曲變形及表皮壞疽病徵。
Curling and necrosis symptoms on asparagus bean pod induced by dual infections with CMV and BlCMV.



圖版 2. Plate 2

A. 本研究所分離之黑眼豇豆嵌紋病毒(BlCMV-T)與美國佛州之黑眼豇豆嵌紋病毒 (BlCMV-Fla) 於 SDS 免疫擴散反應中之血緣關係比較。培養基內含 0.8% Noble agar，1.0% NaN_3及0.5% Sodium dodecyl sulfate。中間反應穴內添加美國佛州大學提供之BlCMV-Fla 抗血清，周圍各穴則添加經 SDS 處理之粗汁液抗原，CK 乃對照用健全長豇豆葉片汁液。圖中顯示對照健全抗原與供試抗血清間發生非特異性反應之沉澱。

Serological reactions between Taiwan isolate of blackeye cowpea mosaic virus (BlCMV-T) and BlCMV from Florida (BlCMV-Fla) in SDS-immunodiffusion test. Agar gel contained 0.8% Noble agar, 1.0% NaN_3, and 0.5% sodium dodecyl

sulfate prepared in distilled water. Center well was charged with antiserum of BlCMV-Fla. The peripheral wells were filled with diseased asparagus bean leaf extracts (BlCMV-T and BlCMV-Fla) and healthy controls (CK) treated by 3% SDS. Note the nonspecific precipitates formed between healthy antigen (CK) and center antiserum.

B. 反應培養基除原A之成份外再添加 2% Bovine senum allumin，健全對照抗原與供試抗血清間非特異性反應消失之情形。此試驗所有處理均與A相同。
SDS-immunodiffusion test with extracts of blackeye cowpea mosaic virus in Taiwan (BlCMV-T) and BlCMV from Florida (BlCMV-Fla) to the antiserum of BlCMV-Fla. Treatments were same as in A, except that 2% bovine serum albumin had been added to the gel. Note the nonspecific precipitates in A was absent here.

C. 接種胡瓜嵌紋病毒 (CMV) 於綠豆子葉上二天即可出現之褐色壞疽斑點。
Brown necrotic spots on primary leaf of mungbean (*Vigna radiata*) two days after inoculation with cucumber mosaic virus(CMV).

D. 利用陰染法 (PTA, pH 7.2). 於電子顯微鏡下觀察所得之黑眼豇豆嵌紋病毒長絲狀粒子。圖中短橫線表示 400 nm.
Filamentous particles of blackeye cowpea mosaic virus in leaf-dip preparations negatively stained by phosphotungstic acid (pH 7.2). Bar indicates 400 nm.

，於每皿含有12ml之瓊脂平板 (Agar plate) 上以直徑 7mm 之打洞器打洞，中央一穴周圍六穴，穴間距離 4-5mm 瓊脂乃以蒸餾水所調成，內含 0.8% Noble agar (Difco)，0.5% Sodium dodecyl Sulfate (Sigma) 及 1.0% Sodium azidie (Merck)，部分實驗中並添加 2% bovine serum albumin (sigma) 以去除血清與抗原間之非特異性反應 [27]。反應乃於室溫下進行，使用之抗原為新鮮病葉以1ml/g 蒸餾水磨碎再加入 1ml/g 之 3% SDS 攪拌後過濾而成 [27]。實驗中所使用之血清與已知抗原均由美國佛州大學 Dr. Purcifull 所提供。

三、蚜蟲之飼育與傳播試驗

供試蚜蟲乃飼養於甘藍菜之桃蚜 (*Myzus persicae* Sulze)，進行傳播試驗時先將蚜蟲挑起置於試管中飢餓處理三～四小時，再移至病葉上吸食一～三分鐘後挑至健株上接種，每棵健全豆株上接種一隻蚜蟲，24小時後噴佈萬靈 (Lannate) 殺蟲劑將蚜蟲殺死，豆株則置於溫室內觀察發病情形。

結　　果

一、病毒之分離

田間所採之皺葉嵌紋病株接種於甜瓜 (*Cucumis melo* "Hsin Yu")、煙草(*Nicotiana tabacum* "Vam-Hicks") 及菜豆 (*Phaseolus vulgaris* "Pinto 111") 時，可使甜瓜及煙草產生系統性嵌紋病徵，使菜豆之接種葉上產生壞疽型局部病斑。但將發病之甜瓜及煙草回接於長豇豆却只能使長豇豆葉片產生輕微之斑紋 (mottling) 病徵 (圖版 1 A)，對長豇豆生育之影響不大。此種斑紋型豇豆病葉接種於菜豆時並不產生壞疽病斑，顯示此病毒與田間皺葉嵌紋病株接種於菜豆產生壞疽病斑之病毒必然不同。經利用單病斑分離法將菜豆上之病斑分離後回接於長豇豆上，證實此病毒於長豇豆上產生脈綠嵌紋病徵 (Vein banding mosaic) 而與前者之斑紋病徵絕然不同 (圖版 1 B)。此二病徵之長豇豆經多次之單病斑接種後，仍然維持固定之病徵，顯示二者均為單一病毒感染所致，無複合感染之現象。

二、病毒之鑑定

將上述兩病毒分別接種於各種不同指示植物以了解其寄主範圍與反應，結果如表1所示

表 1. 胡瓜嵌紋病毒 (CMV) 與黑眼豇豆嵌紋病毒 (BlCMV) 在供試植物上之反應。
Table 1. Host reactions of cucumber mosaic virus and blackeye cowpea mosaic virus

供試植物 Test plant	反應 Reactions[a)]	
	CMV	BlCMV
Cucurbitaceae		
Cucurbita moschata	M	—
Cucumis melo cv. Hsin Yu	M	—
C. melo cv. Yin Ho	M	—
C. sativus cv. Fei Yen	M	—
Citrullus vulgaris cv. Hsiao Fong	M	—
Chenopodiaceae		
Chenopodium amaranticolor	NL	CL
C. quinoa	CL	CL
Solanaceae		
Datura stramonium	VC	—
Petunia hybrida	M	—
Lycopersicum esculentum	m, FL	—
Nicotiana tabacum cv. Van Hicks	M	—
N. bensamiana	M	m
N. rustica	M	—
N. debnyii	M	—
N. sylvestris.	M	—
N. gluca	M	—
Leguminosae		
Vigna angularis	M	m
V. sesquipedalis cv. Kao Hsiung green pod	m	VBM
V. unguiculata cv. California blackeye	m	m
V. radiata cv. Tainan No. 1	NL	m
V. mungo	m	—
Vicia faba	m	—
Glycine max	—	m
Pisum sativum	m	—
Phaseolus vulgaris cv. Black turtle	m	—
P. vulgaris cv. Bountiful	m	m
Arachis hypogaea cv. Tainon No. 4	—	—
Amaranthaceae		
Amaranthus mangostanus	m	—
Gomphrena globosa	CL	SLI
Compositae		
Chrysanthemum morifolium	—	—
Vinca rosea	m	—
Cruciferae		
Brassica juncea	—	—
B. chinensis	—	—
Raphanus sativus	—	—

a) M: 嵌紋 Mosaic; NL: 壞疽病斑 Necrotic lesion; CL: 黃化病斑 Chlorotic lesion; VBM: 脈綠嵌紋 Vein banding mosaic; VC：葉脈透化 Vein clearing; FL: 蕨狀葉 Fern leaf; m: 斑紋 mottling; SLI: 無病徵感染 Symptomless infection; —: 不感染 No infection.

表 2. 溫室內進行之胡瓜嵌紋病毒 (CMV) 及黑眼豇豆嵌紋病毒 (BlCMV) 單獨與複合感染時對長豇豆生育、產量及品質之影響。

Table 2. Effect of single and dual infections with CMV and BlCMV on the growth, yield and quality of asparagus beans in the greenhouse

處理 Treatment[a]	葉 Leaf		豆莢 Pod				種子 Seed	
	數目 Number	鮮重 Wt (g)	數目 Number	乾重 Dry Wt[b] (g)	長度 Length (cm)	外形 Shape	數目 Number	乾重 Dry Wt (g)
CMV	43[a][c]	187.6[a]	11[a]	19.0[a]	36.8[a]	Normal	94.9[a]	15.7[a]
BlCMV	47[a]	183.3[a]	11[a]	21.8[a]	36.6[a]	Normal	98.4[a]	15.1[a]
CMV+BlCMV	35[b]	77.0[b]	5[b]	11.0[b]	32.8[b]	Abnormal	62.0[b]	8.1[b]
Control	55[a]	202.5[a]	12[a]	23.2[a]	39.0[a]	Normal	105.6[a]	17.1[a]

a) 播種後第二十天接種；所有數值除莢長外乃每株長豇豆之平均值且均為接種後第六十天所測之結果。
Plants were inoculated 20 days after seeding; all values except pod length are the average per plant; measurements were made 60 days after inoculation.

b) 乾重係以 40°C 溫箱烘乾三天後所測得之結果。
Dryweight was measured after drying at 40C for 3 days.

c) 數值後英文字母相同者表示經鄧肯氏多重變域分析結果差異 ($p=0.01$) 不顯著。
Column numbers with the same letter are not significantly different at $P=0.01$ according to Duncan's multiple range test.

表 3. 胡瓜嵌紋病毒 (CMV) 及黑眼豇豆嵌紋病毒 (BlCMV) 單獨及複合感染長豇豆時之蚜蟲傳播情形。

Table 3. Transmission of CMV and BlCMV from asparagus bean plants infected with either virus or doubly infected with both by the peach aphid, *Myzus persicae*

病毒來源 Source plants carrying	病毒傳播率 Percentage of virus transmission[a]			
	CMV	BlCMV	Both	Total
CMV	24	—	—	24
BlCMV	—	28	—	28
CMV+BlCMV	18	20	12	50

a) 每一處理接種 50 株長豇豆，每株長豇豆接種一隻蚜蟲。
50 plants were used per treatment, one aphid was placed on each plant.

，兩病毒在寄主反應上迥然不同。其中造成脈綠嵌紋病徵之病毒寄主範圍甚窄，只能感染荳科、藜科與茄科中之 *Nicotiana bensamiana*。而斑紋型病毒則寄主範圍十分寬廣，除了荳科外尚可感染茄科、葫蘆科及玄參科等植物。利用生物檢定法判定兩病毒之粗汁液物理性質，發現兩者間有很大的差異，脈綠型病毒之耐熱性爲 50-55°C，耐稀釋性爲 10^{-3}-10^{-4}，耐保存性爲 2～3 天。而斑紋型病毒之耐熱性爲 55～60°C，耐稀釋性爲 10^{-4}-10^{-5}，耐保存性爲 20～24 小時。利用電子顯微鏡觀察病毒顆粒時發現造成脈綠嵌紋病徵之病毒粒子爲長絲狀，長度約爲 750nm 左右（圖版 2D），而造成斑紋病徵之病毒則爲球形顆粒，直徑約爲 30nm。就以上各項結果判斷，造成斑紋病徵之球形病毒應爲胡瓜嵌紋病毒（Cucumber mosaic virus）簡稱 CMV。而造成脈綠嵌紋病徵之病毒其各項特性與黑眼豇豆嵌紋病毒（Blackeye cowpea mosaic virus）簡稱 BlCMV 極爲類似，加上利用双重免疫擴散法比較此病毒與 BlCMV 間的血清類緣關係，確定兩者血緣特性完全相同（Serologically identical），進一步證實本病毒即爲黑眼豇豆嵌紋病毒。（圖版 2A,B）

三、不同接種方式對皺葉嵌紋病徵產生之影響

將 CMV 與 BlCMV 混合接種於長豇豆，約 9-11 天後可於新葉上產生與田間病株完全相同之皺葉嵌紋病徵（圖版 1C），病株所生出之豆莢幼小時即有扭曲變形現象，成長後不僅扭曲呈捲蛇狀且有壞疽斑出現（圖版 1D）。另外將 CMV 與 BlCMV 分別單獨接種，約 9 天後即分別產生斑紋與脈綠嵌紋病徵，此時若將兩病毒分別以機械接種及蚜蟲媒介方式接種於相對之病株上時，則第二次接種（Challenge inoculation）CMV 之豆株於接種後 9-11 天產生皺葉嵌紋病徵，而第二次接種 BlCMV 者則於接種後 4-6 天即可出現皺葉嵌紋病徵，此種依前後接種方式所產生之病徵與兩病毒混合同時接種者全無差異。

四、單獨與混合接種 CMV 與 BlCMV 對長豇豆生育及產量之影響

於溫室中將 CMV 與 BlCMV 單獨及混合接種於長豇豆上，每一處理接種 12 株長豇豆，分成四組，以完全逢機方式置於同一溫室中之不同位置以消除環境因子之差異，結果單獨接種 CMV 及 BlCMV 之豆株，不管在葉片數目、鮮重、豆莢數目、乾重、長度、外形、種實數目及乾重上均較不接種對照豆株略有降低但無顯著差異。而混合接種之皺葉嵌紋病株則不僅生育受阻，且豆莢與種子的產量均與健全對照達極顯著之差異（表2）。

五、單獨及複合感染病株中病毒濃度之比較

利用藜作爲生物檢定寄主，比較單獨及複合感染病株中病毒濃度之差異，其中複合感染病株乃包括兩病毒混合同時接種及先接種一種病毒而於第 10 天後再接種相對病毒之病株。每一處理均於接種後第四天起開始檢定，每隔三天檢定一次，直至第 31 天爲止。檢定複合感染病株中 BlCMV 之濃度時，爲避免先發病之 CMV 病斑影響了發病較慢之 BlCMV 病斑之表現，乃利用 10%（v/v）n-butanol 處理供試汁液，將 CMV 之感染力除去後再行檢定。單獨感染 BlCMV 之病株檢定時亦以相同方法處理以便於比較。結果發現單獨感染 CMV 之豆株其濃度於接種後第7天即達最高峯，而後逐漸下降並維持於每一藜葉片 30 個病斑左右之濃度。複合感染病株中混合同時接種者其 CMV 之濃度於第 10 天後即維持在每一藜葉片 400-500 個病斑之高濃度狀態。另外單獨先接種 CMV 之病株於第10天後再接種 BlCMV 時，可使原已下降之 CMV 濃度於三天內提高 15 倍以上。同樣地，將 CMV 接種於已發病之 BlCMV 病株時，於三天內 CMV 亦可繁殖至相當高之濃度，且一直維持於極高之水平（圖1）。至於 BlCMV 濃度之變化情形與 CMV 大致相同。複合感染病株中之病毒濃度均較單獨感染者提高，但提高之程度則遠較 CMV 低（圖2）。

六、蚜蟲傳播試驗

以單獨及複合感染豆株做傳染源（source plant）進行傳播試驗，結果發現兩病毒均可由桃蚜以非永續型方式（non-persistent type）傳播至健全豆株，但其傳播率則遠較以複合感染之皺葉嵌紋病株爲傳染源者低，而且經由單

隻桃蚜即可將複合感染病株中之兩病毒以單獨或複合之狀態傳至健株。（表3）

討　論

皺葉嵌紋病乃目前本省長豇豆上發生極為普遍之毒素病，由本試驗結果可知其對長豇豆生育、產量及品質之影響非常嚴重。國外有關豇豆毒素病之研究資料很多[2,3,4,7,8,12,13,14,16,21,22,23,25,31,33,36,38]，但至目前為止尚未有類似本病病徵之報告，而國內研究資料則付缺如。實驗中由田間皺葉嵌紋病株分離得到兩種病毒，此二病毒單獨感染長豇豆時均不造成皺葉嵌紋病徵，但混合接種或先後接種，則使長豇豆產生極嚴重之皺葉嵌紋，因而確定本病乃由兩病毒複合感染所致。

兩病毒中使長豇豆產生斑紋型病徵之病毒，經電子顯微鏡觀察發現其形態為球形顆粒體，直徑約 30nm 左右。根據文獻之記載，可以感染豇豆之球形病毒有 Cowpea chlorotic mottle virus (CCMV)[4,21], Cowpea mosaic virus (CpMV)[18], Bean sourthern mosaic virus (BSMV)[21,30], Peanut stunt virus (PSV)[24], Tomato aspermy virus (TAV)[17] 及 Cucumber mosaic virus (CMV)[14,15] 等六種，其中 PSV 可感染花生造成矮化[24], CpMV 及 CCMV 可感染大豆而不能由蚜蟲媒介傳播[4,18], BSMV 不能感染茄科與葫蘆科[30]，而 TAV 可以感染菊花但不能於菜豆上造成系統性感染[17]。反之，本研究之球形病毒不感染花生、大豆與菊花而能感染茄科與葫蘆科且又能經蚜蟲媒介傳播，此等特性與上述五種病毒絕然不同，而與 CMV 相同[2,14,15]，加上本病毒在各種寄主上之反應與 CMV 極為符合，例如本病毒在番茄上可造成典型之蕨葉型 (Fern leaf) 病徵[15]，在綠豆初葉上造成褐色局部病斑等[28]。在物理性質方面除本病毒之耐保存性較短外，其餘特性與 CMV 也是完全相同[6,14,15]，因此更加確定本病毒即為胡瓜嵌紋病毒（CMV），又根據其在荳科植物上造成系統性感染之特性判斷，本病毒應屬 CMV 之Y系統[26]，或稱為荳科系統[37]。

至於實驗中所分離到的長絲狀病毒，其長度約 750nm，應屬 PVY 群病毒[10]，就文獻上曾記載過可感染豇豆的 PVY 群病毒共有五種，即 Cowpea aphid-borne mosaic virus (CAMV)[7,8,13,22], Cowpea mild mottle virus (CMMV)[12], Blackeye cowpea mosaic virus (BlCMV)[38]，Peanut mottle virus (PMV)[20,34]，及 Bean yellow mosaic virus (BYMV)[9,10]，此五種中 CAMV 可感染煙草及豌豆[7,8,13,22]，PMV 可感染落花生[20]，BYMV 可感染蠶豆[9]，CMMV 可感染落花生但不能由蚜蟲傳播[12]，而本研究之長絲狀病毒不能感染煙草、豌豆、落花生與蠶豆且能經由蚜蟲媒介傳播，顯然與上述病毒不同。唯有 BlCMV 之寄主反應，粒子型態及傳播特性等與本病毒較為吻合[25,38]，加上應用 SDS 免疫擴散反應直接將本病毒與美國之 BlCMV 抗原比較結果，發現兩即者間血緣特性完全相同，因此確定本病毒即為黑眼豇豆嵌紋病毒。

豇豆受兩種以上病毒複合感染之病例文獻上曾記載的有 CMV 與 BYMV[21] CMV 與 CCMV[16]，CCMV 與 SBMV[21]，CCMV 與 BYMV[16]，及 CMV 與 BlCMV[25,36] 等五種情形，前四種複合感染之結果其病徵與單獨感染者並無差異，唯有最後的CMV與BlCMV複合感染會造成黑眼豇豆(*Vigna unguiculata*) 的矮化，而與兩病毒單獨感染之病徵不同，因此特稱之為豇豆矮化症 (Cowpea stunt)[25]，今本研究亦證實 CMV 與 BlCMV 複合感染長豇豆（*V. sesquipedalis*）時其病徵與單獨感染時不同且更形嚴重，由此判斷 CMV 與 BlCMV 間必有某種程度的生物化學關係 (Biochemical relationship) 存在。其實植物在自然情況下同時受到兩種或兩種以上病毒感染的現象極為普遍[16,21,29,35,33]，許多報告曾發現複合感染的病毒間產生複雜的交互作用（Interaction)[5,19]。根據 Kassanis (1961) 之意見，植物受到兩種以上之病毒感染後，其病徵若較單獨感染時嚴重，或者複合感染後之病毒濃度較單獨感染時高，均可稱為相乘作用（Synergism)[19]，此種病例除了上述的黑眼豇豆矮化症外，尚有煙草嵌紋病毒（Tobacco

mosaic virus) 與馬鈴薯病毒X(Potato virus X) 複合感染蕃茄所造成的蕃茄條斑症 (Tomato streak)[35]，PVX與馬鈴薯病毒Y (PVY) 複合感染馬鈴薯所造成的皺葉嵌紋症 (Potato rugose mosaic)[29]。今本研究之各項結果亦顯示不僅 CMV 與 BlCMV 複合感染長豇豆後病徵較兩病毒單獨感染時嚴重，而且對長豇豆之生育、產量及品質之影響亦有顯著之增加，更甚者兩病毒之濃度也因此較單獨感染時提高，因此斷定兩病毒複合感染長豇豆後亦發生相乘作用而導致皺葉嵌紋病徵之出現。此種現象 Rochow and Ross (1955) 在 PVX 及 PVY 複合感染馬鈴薯之皺葉嵌紋病株中亦會發現，當時他們推斷可能是其中之一種病毒之代謝產物正好是另一病毒合成複製所必需[29]。

由試驗中之蚜蟲傳播結果得知，皺葉嵌紋病株中的 CMV 與 BlCMV 可經由單隻蚜蟲以單獨或複合的狀態傳播到健株，其總和傳播率較之以兩病毒單獨感染病株爲傳染源者高出甚多，此種特性 Kühn (1978) 在 CMV 與 BlCMV 複合感染的豇豆矮化病中亦曾發現[25]，但是在前述其他豇豆上之複合感染病例中則無此現象[16]，因此判斷此種現象與複合感染後是否產生相乘作用有很大的關係，由於發生相乘作用後病毒之濃度提高，使得蚜蟲口針刺吸病株時帶毒的機會相對的增加很多，因而提高了病毒的傳播率，這在此病害的流行上必然具有重要的意義，也可能就是此病害近年來大量發生的主要原因。

誌　謝

本文承農業發展委員會邱博士人璋斧正，中興大學植物病理系柯副教授南靖協助電子顯微鏡觀察，實驗過程中復蒙林主任益昇之支持與鼓勵，系上多數同仁之協助，謹此誌謝。

引 用 文 獻

1. 張清安 1979. 木瓜毒素病純系病毒之分離與兩種不同病徵型病毒之寄主範圍與物理性質之比較。中華農業研究 28(3):207-216.
2. Anderson, C. W. 1955. Vigna and Crotalaria viruses in Florida. I. Preliminary report on a strain of cucumber mosaic virus obtained from cowpea plants. Plant Dis. Rep. 39: 346-348.
3. Anderson, C. W. 1955. Vigna and Crotalaria viruses in Florida. II. Notations concerning cowpea mosaic virus (*Marmor vignae*). Plant Dis. Rep. 39:349-353.
4. Bancroft, J. B. 1971. Cowpea chlorotic mottle virus. Descriptions of Plant Viruses. C. M. I./A. A. B. No. 49.
5. Bennett, C. W. 1953. Interactions between viruses and virus strains. Adv. Virus Res. 1:39-67.
6. Bhargava, K. S. 1950. Some properties of four strains of cucumber mosaic virus. Ann. Appl. Biol. 38:377-389.
7. Bock, K. R. 1973. East African strains of cowpea aphid-borne mosaic virus. Ann. Appl. Biol. 74:75-83.
8. Bock, K. R., and M. Conti. 1974. Cowpea aphid-borne mosaic virus. Descriptions of Plant Viruses. C. M. I./A. A. B. No. 134.
9. Bos, L. 1970. Bean yellow mosaic virus. Descriptions of Plant Viruses. C. M. I/A. A. B. No. 40.
10. Brandes, J., and R. Bercks. 1965. Gross morphology and serology as a basis for classification of elongated plant viruses. Adv. Virus Res. 11:1-24.
11. Brierley, P., and F. F. Smith. 1962. Three cowpea mosaic viruses from Gladiolus. Plant Dis. Rep. 46.335-337.
12. Brunt, A. A., and R. H. Kenten. 1973. Cowpea mild mottle, a newly recognized virus infecting cowpeas (*Vigna unguiculata*) in Ghana. Ann. Appl. Biol. 74:67-74.

13. Fischer, H. U., and B. E. Lockhart. 1976. A strain of cowpea aphid-borne mosaic virus isolated from cowpeas in Morocco. Phytopathol. Z. 85: 43-48.

14. Fischer, H. U., and B. E. Lockhart. 1976. A strain of cucumber mosaic virus isolated from cowpeas in Morocco. Phytopathol. Z. 85:132-138.

15. Gibbs, A. J., and B. D. Harrison. 1970. Cucumber mosaic virus. Descriptions of Plant Viruses. C. M. I./A. A. B. No. 1.

16. Harrison, A. N., and R. T. Gudauskas. 1968. Effects of some viruses on growth and seed production of two cowpea cultivars. Plant Dis. Rep. 52: 509-511.

17. Hollings, M., and O. M. Stone. 1971. Tomato aspermy virus. Descriptions of Plant Viruses. C. M. I./A. A. B. No. 79.

18. Kammen, A. V. 1971. Cowpea mosaic virus. Descriptions of Plant Viruses. C. M. I./A. A. B. No. 47.

19. Kassanis, B. 1963. Interactions of viruses in plants. Adv. Virus Res. 10:219-255.

20. Kuhn, C. W., and K. R. Bock. 1975. Peanut mottle virus. Descriptions of Plant Viruses. C. M. I./A. A. B. No. 141.

21. Kuhn, C. W., and W. O. Dawson. 1973. Multiplication and pathogenesis of cowpea chlorotic mottle virus and southern bean mosaic virus in single and double infections in cowpea. Phytopathology 63:1380-1385.

22. Lovisolo, O., and M. Conti. 1966. Identification of an aphid-transmitted cowpea mosaic virus. Neth. J. Plant Pathol. 72:265-269.

23. Mclean. D. M. 1941 Studies on mosaic of cowpeas, *Vigna sinensis*. Phytopathology 31:420-430.

24. Mink, G. I. 1970. Peanut stunt virus. Descriptions of Plant Viruses. C. M. I./A. A. B. No. 92.

25. Pio-Ribeiro, G., S. D. Wyatt, and C. W. Kuhn. 1978. Cowpesa stunt: a disease caused by a synergistic interaction of two viruses. Phytopathology 68:1260-1265.

26. Price, W. C. 1934. Isolation and study of some yellow strains of cucumber mosaic. Phytopathology 24:743-761.

27. Purcifull, D. E., and D. L. Batchelor. 1977. Immunodiffusion tests with sodium dodecyl sulfate (SDS)-treated plant viruses and plant viral inclusions. Fla. Agric. Exp. Stn. Tech. Bull. No. 788. 39p.

28. Purivirojkul, W., P. Sittiyos, C. H. Hsu, J. M. Poehiman. and O. P. Sehgal. 1978. Natural infection of mungbean (*Vigna radiata*) with cucumber mosaic virus. Plant Dis. Rep. 62:530-534.

29. Rochow, W. F., and A. F. Ross. 1955. Virus multiplication in plants doubly infected by potato virus X and Y. Virology 1:10-27.

30. Shepherd, R. J. 1971. Sourthern bean mosaic virus. Descriptions of Plant Viruses. C. M. I./A. A. B. No. 57.

31. Shepherd, R. J., and R. W. Fulton. 1962. Identity of a seed-borne virus of cowpea. Phytopathology 52:489-493.

32. Smith, K. M. 1931. On the composite nature of certain potato diseases of the mosaic group as revealed by the use of plant indicators and selective methods of transmission. Proc. Roy. Soc. (Lond.) B109:251-266.

33. Snyder, W. C. 1942. A seed-borne mosaic of asparagus bean, *Vigna-sesquipedalis.* Phytopathology 32:518-523.
34. Sun, M. K. C., and T. T. Hebert. 1972. Purification and properties of a severe strain of peanut mottle virus. Phytopathology 62:832-839.
35. Vanterpool. T. C. 1926. Streak of winter blight of tomato in Quebec. Phytopathology 16:311-331.
36. Wyatt, S. D., G. Pio-Ribeiro, and C. W. Kuhn. 1976. A cowpea disease caused by two viruses. Proc. Am. Phytopathol. Soc. 3:344 (Abstr.)
37. Yasuo, K. 1966. Identification of viruses infecting vegetables and ornamentals in Japan. Ann. Phytopath. Soc. Japan 32:114-116.
38. Zettler, F. W., and I. R. Evans. 1972. Blackeye cowpea mosaic virus in Florida: host range and incidence in certified cowpea seed. Proc. Fla. State Hortic. Soc. 58:99-101.